

金沢大学がん研究所共同研究成果報告書

平成22年4月30日提出

対象研究テーマ：HGF-Met 系を中心とする制がん研究

研究期間：2009年8月17日～2010年3月31日

研究題目：構造生物学を基盤とする HGF-Met 系阻害の分子創薬

研究代表者：大阪府立大学大学院理学系研究科 准教授 木下誉富

研究成果の概要：

2.9Å分解能での HGF β ・シード化合物の複合体構造解析に成功した。シード化合物の結晶中における占有率が 100%に達しておらず、詳細は議論できないが、インシリコによる創薬過程で見出された S 2 サイトに結合していることが明らかとなった。この S 2 サイトは Met が β 鎖に結合する際に重要であることがわかっており、シード化合物が直接 HGF と Met の結合を阻害している様子を捉えている。これにより、Structure-Based Drug Design による高活性 HGF アンタゴニストを創出できる構造基盤が整った。

研究分野：構造生物学、創薬化学

キーワード：X線結晶構造解析、Structure-Based Drug Design (SBDD)

1. 研究開始当初の背景

HGF（肝細胞増殖因子）は Met 受容体を介して多彩な生理機能を発揮する。HGF は肝臓をはじめ、腎臓、心血管系、脳神経系など複数の組織において再生や保護を担う生理活性タンパク質であり、HGF を投与・補充することが、肝硬変、急性・慢性腎不全、脳硬塞や筋萎縮性側索硬化症、皮膚潰瘍など様々な疾患の治癒・改善につながる事が明らかにされている。一方、悪性腫瘍の本態といえるのが癌細胞のもつ高い浸潤・転移能である。HGF は様々な癌に対して、浸潤・転移を強力に促すことから、HGF-Met 受容体系は癌の浸潤・転移阻止につながる分子標的になると考えられている。したがって、HGF-Met 受容体系を阻害する分子（HGF-Met アンタゴニスト）は癌の浸潤・転移・成長阻害につながる新規制癌分子になる一方、Met 受容体を活性化するアゴニストは様々な疾患の治癒・改善につながる再生医薬となることが期待される。

2. 研究の目的

タンパク質の結晶化技術やX線結晶構造解析技術の進歩がコンピュータの進歩と相まって、構造生物学とバイオインフォマティクス技術を使用して新しい医薬を探索する手法が進展している。本研究では HGF-Met 受容体複合体の立体構造に基づき、インシリコ創薬技術を基盤として、HGF-Met 受容体系

を阻害する低分子アンタゴニストあるいは Met 受容体の活性化につながる低分子アゴニストを創成することを目的とする。とりわけ、HGF 依存的 Met 受容体活性化の活性化様式を考慮し、HGF-Met 系を阻害する低分子アンタゴニスト化合物の創成を主たる目的とする。

3. 研究の方法

これまでの共同研究からインシリコ創薬により、NK1-NK1 相互作用面、HGF β 鎖 - Met 相互作用面を遮断する HGF アンタゴニストを探索し、後者の相互作用を特異的に阻害する化合物を得ている。HGF 分子内ドメインである β 鎖の蛋白質サンプルを結晶化用に高純度精製し、シード化合物との複合体の結晶を調製する。この結晶を用いて、高エネルギー加速器研究機構においてX線回折データ測定を行い、構造解析を行う。

4. 研究成果

2.9Å分解能での HGF β ・シード化合物の複合体構造解析に成功した。シード化合物の結晶中における占有率が 100%に達しておらず、詳細は議論できないが、インシリコによる創薬過程で見出された S 2 サイトに結合していることが明らかとなった（図1）。この S 2 サイトは Met が β 鎖に結合する際に重要であることがわかっており、シード化合物が

直接 HGF と Met の結合を阻害している様子を捉えている。今後、X線結晶中における化合物の占有率を上げることで化合物の詳細な結合様式を明らかにし、論理的創薬手法である Structure-Based Drug Design 研究を展開し、高活性化合物の創出を目指す。

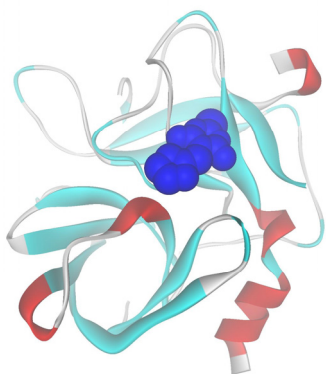


図 1 シード化合物（青色）の結合様式

5. 主な発表論文等

（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 5 件）

1. Combined high-resolution neutron and x-ray analysis of inhibited elastase confirms the active-site oxyanion hole but rules against a low-barrier hydrogen bond, *J. Am. Chem. Soc.* **131**, 11033-11040 (2009). T. Tamada, T. Kinoshita, K. Kurihara, M. Adachi, T. Ohhara, K. Imai, R. Kuroki, T. Tada

〔学会発表〕（計 18 件）

1. Experimental Approaches to Advanced Structure-Based Drug Design, T. Kinoshita, CBI-KSBSB Joint Conference（釜山、2009年）、招待講演

〔図書〕（計 1 件）

1. 「インシリコ技術を駆使した薬剤開発の実際」木下誉富、仲西功（著者分担）、コンピュータで薬を創ろう、化学同人（2009）、81-94.

〔産業財産権〕

○出願状況（計 1 件）

PCT/JP2010/052765

（元出願：特願 2009-03997）

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大阪府立大学理学系研究科 木下誉富
准教授

(2) 研究分担者

大阪府立大学理学系研究科 仲庭哲津子
ポスドク

大阪府立大学理学系研究科 関口雄介
M2

(3) 本研究所担当者

腫瘍動態制御 松本邦夫 教授